



⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

⑬ Anmeldenummer: **92105822.8**

⑮ Int. Cl.⁵: **C07F 9/113, A61K 31/66,**
C07F 9/572, C07F 9/59,
C07F 9/10, C07F 9/173,
C07F 9/655, C07F 9/09

⑭ Anmeldetag: **03.04.92**

⑯ Priorität: **05.04.91 DE 4111105**

⑰ Erfinder: **Eibl, Hansjörg, Prof. Dr.**

⑯ Veröffentlichungstag der Anmeldung:
07.10.92 Patentblatt 92/41

Heinrich-Deppe-Ring 22
W-3406 Bovenden-Eddigehausen(DE)

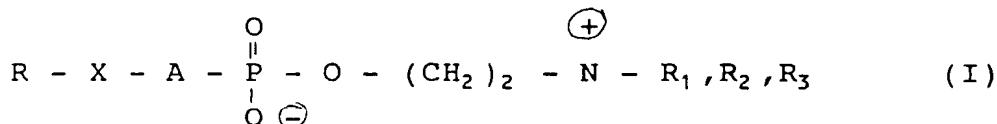
⑯ Benannte Vertragsstaaten:
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU MC
NL PT SE

⑰ Vertreter: **Huber, Bernhard, Dipl.-Chem. et al**
Patentanwälte H. Weickmann, Dr. K. Fincke
F.A. Weickmann, B. Huber Dr. H. Liska, Dr. J.
Prechtel Kopernikusstrasse 9 Postfach 86 08
20
W-8000 München 86(DE)

⑯ Anmelder: **Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.**
Bunsenstrasse 10
W-3400 Göttingen(DE)

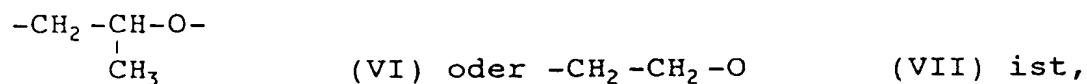
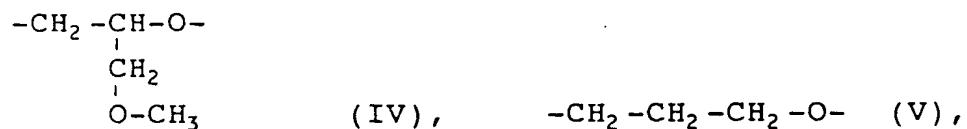
⑯ Neue Erucyl-, Brassidyl- und Nervonylderivate.

⑯ Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel I



in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,
R₁, R₂ und R₃ unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,
A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln

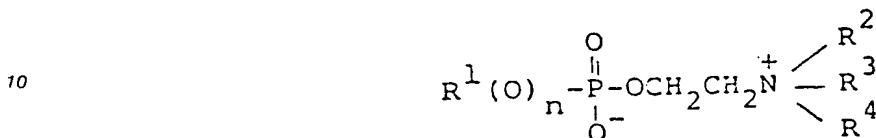
EP 0 507 337 A2



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,
 und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet,
 wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist, sowie deren Verwendung als Arzneimittel.

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Phospholipide, die einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest enthalten, und deren Verwendung als Arzneimittel, insbesondere zur Bekämpfung von Tumoren sowie Protozoen- und Pilzerkrankungen, sowie zur Therapie von Autoimmunerkrankungen und Knochenmarkschädigungen.

5 Die Verwendung von Phospholipiden als Arzneimittel ist bekannt. Die EP-A 0 108 565 offenbart Phospholipide, einschließlich ihrer pharmazeutisch verträglichen Salze der allgemeinen Formel

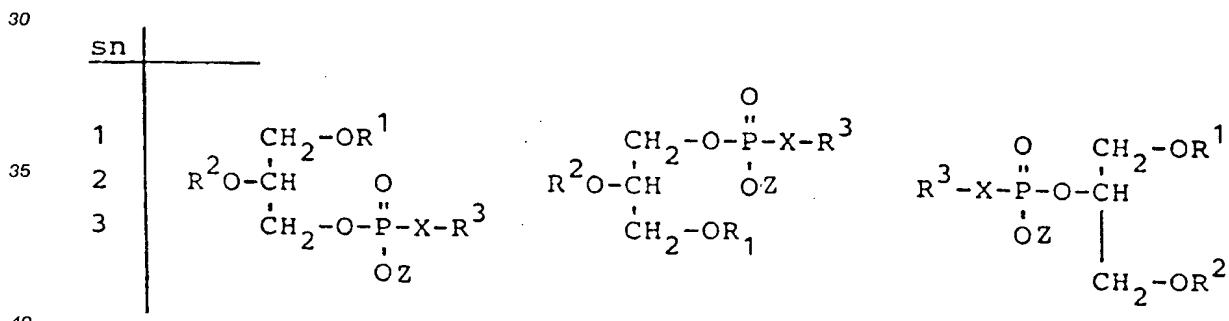


15 worin R^1 ein aliphatischer $\text{C}_8\text{-C}_{30}$ -Kohlenwasserstoffrest ist, R^2 , R^3 und R^4 unabhängig Wasserstoff oder $\text{C}_1\text{-C}_5$ -Alkyl sind oder worin



25 cyclisches Ammonium darstellt und n 0 oder 1 ist. Vorzugsweise ist R^1 ein aliphatischer Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 22, besonders bevorzugt mit 14, 17 oder 18 Kohlenstoffatomen. Diese Verbindungen werden als geeignet zur Bekämpfung von Tumorzellen oder Pilzerkrankungen oder zur Verwendung als Pflanzenschutzmittel bezeichnet.

Die DE-OS 32 39 817 offenbart Glycerinderivate der allgemeinen Formel



worin R^1 und R^2 u.a. substituierte oder unsubstituierte Alkylreste mit 1 bis 24 Kohlenstoffatomen bedeuten können, X u.a. Sauerstoff bedeuten kann und R^3 u.a. eine Aminoalkylgruppe und eine N-Alkylaminoalkylgruppe mit 2 bis 14 Kohlenstoffatomen in den Alkylresten bedeuten kann. Weiterhin sind dort auch 45 allgemeine Verfahren zur Herstellung der obigen Verbindungen offenbart, so daß man Glycerinderivate mit verschiedenen Resten stellungsspezifisch und mit hoher Selektivität herstellen kann.

Die DE-OS 36 41 379 offenbart Verbindungen der allgemeinen Formel



worin R einen Kohlenwasserstoffrest mit 12 bis 24 C-Atomen sein kann, X u.a. O bedeutet und R^1 u.a. eine Alkylgruppe bedeuten kann, die mit unterschiedlichen Aminogruppen substituiert sein kann. Vorzugsweise 55 ist R ein Alkyl- oder Alkylenrest mit 14 bis 20 C-Atomen, $\text{X} = \text{O}$ und $\text{R}^1 =$ Trialkylammoniummethyl mit 1 bis 3 C-Atomen je Alkylgruppe. Besonders bevorzugt sind die Verbindungen Hexadecylphosphocholin und Oleylphosphocholin. Ferner wird die Verwendung der oben genannten Verbindungen als Arzneimittel, insbesondere zur Behandlung von Tumoren offenbart. Derartige Arzneimittel können auch zur topischen

Behandlung von Hauttumoren als zusätzlichen Wirkstoff Alkylglycerin enthalten. Es werden auch allgemeine Herstellungsmethoden für die Verbindungen gemäß der oben genannten allgemeinen Formel gelehrt.

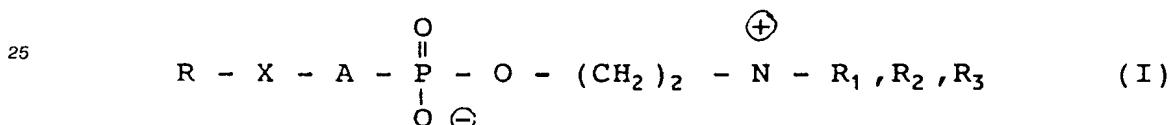
Die DE-OS 36 41 491 offenbart ein Antitumor-wirksames Arzneimittel, das Hexadecylphosphocholin als Wirkstoff sowie gegebenenfalls weitere übliche pharmazeutische Zusatz-, Träger- und/oder Verdünnungsstoffe enthält. Ein derartiges Arzneimittel kann als zusätzlichen Wirkstoff auch ein Alkylglycerin enthalten.

Weiterhin ist bekannt, daß ein in Position 2 methyliertes Glycerinderivat von Hexadecylphosphocholin das Etherphospholipid ET-18-OCH₃ ein sehr wirksames Antitumormittel ist (siehe z.B. Berdel et al. in *Phospholipids and Cellular Regulation* (1985), herausgegeben J.F. Kuo, Seiten 41-74, CRC-Press, Boca Raton, Florida). Ferner hat sich ET-18-OCH₃ auch als geeignetes Arzneimittel zur Bekämpfung von Autoimmunkrankheiten wie etwa Multipler Sklerose erwiesen.

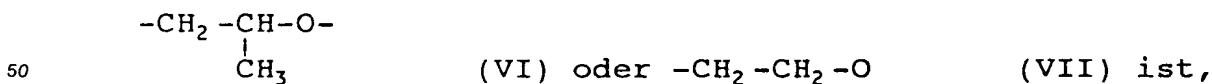
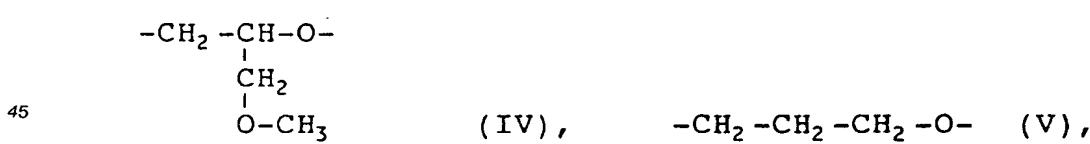
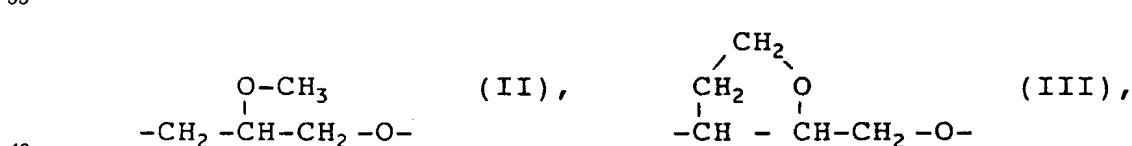
Aus den oben genannten Veröffentlichungen ist ersichtlich, daß Phosphatidylamine und Etherlysolecitrine als Arzneimittel für unterschiedliche Anwendungen, z.B. zur Bekämpfung von Tumoren und Autoimmunerkrankungen, geeignet sind. Als bisher wirksamste Arzneimittel aus dieser Verbindungsklasse haben sich Hexadecylphosphocholin und ET-18-OCH₃ erwiesen. Jedoch auch diese Substanzen haben den Nachteil, daß sie bei hoher Dosierung eine toxische Wirkung zeigen. Ein weiterer Nachteil der bisher bekannten Phospholipide ist, daß sie eine Zytolyse von Zellen, insbesondere ein Hämolyse von Erythrozyten bewirken. Deshalb können diese Substanzen nicht intravenös appliziert werden, da dies zu hämolytischen und gewebenekrotischen Begleiterscheinungen führt, wie detailliert in der DE 40 26 136 beschrieben ist.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es somit, neue Phospholipide zu finden, die als Arzneimittel wirksam sind, bei denen jedoch die Nachteile des Standes der Technik mindestens teilweise beseitigt sind.

Die erfindungsgemäße Aufgabe wird gelöst durch Verbindungen der allgemeinen Formel I



30 in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,
R₁, R₂ und R₃ unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,
A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,

55 und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet, wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist.

In der obigen Formel (I) bedeutet X vorzugsweise ein Sauerstoffatom, und A bedeutet vorzugsweise eine Einfachbindung. Weiterhin bevorzugt ist, daß R₁, R₂ und R₃ jeweils Methylgruppen sind, so daß es

sich bei den resultierenden Verbindungen um Phosphocholinderivate handelt. Besonders bevorzugt ist Erucylphosphocholin.

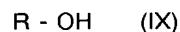
Erucyl-, Brassidyl- und Nervonyl-Reste sind langketige Alkylreste. Sie können aus den entsprechenden Fettsäuren, die teilweise natürlich vorkommen, gewonnen werden. Die Erucasäure (cis-13-Docosensäure)

5 kommt als Glycerinester in Senf-, Traubenkern-, Dorschleber- und Cruciferenölen, insbesondere in Rapsöl vor. Die dazu stereoisomere Brassidinsäure (trans-13-Docosensäure) kommt in der Natur nicht vor, ist jedoch bei Erwärmung mit salpetriger Säure aus der Erucasäure erhältlich. Die Nervonsäure (Selacholeinsäure, cis-15-Tetracosensäure) kommt in Haifischleberölen, Sphingomyelin und Cerebrosiden, insbesondere Nervon vor.

10 Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen können diese Fettsäuren der allgemeinen Formel (VIII):



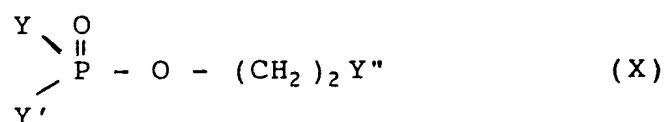
15 in der R ein Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylrest ist, durch Reduktion nach bekannten Methoden, vorzugsweise mit $LiAlH_4$ in die entsprechenden Alkohole der allgemeinen Formel (IX):



20 überführt werden. Diese Alkohole können dann nach ebenfalls bekannten Verfahren in die erfindungsgemäßen Substanzen überführt werden.

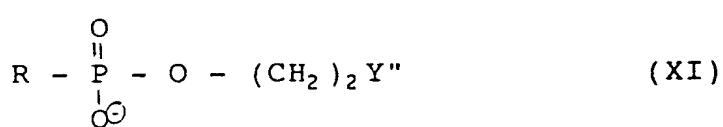
Die Herstellung von erfindungsgemäßen Verbindungen (I), bei denen X ein Sauerstoffatom und A eine Einfachbindung bedeutet, können z.B. nach den in DE 27 52 125, EP-A 0 108 565, DE 36 41 491, DE 36 41 379, DE 36 41 377 und DE 40 13 632 offenbarten Verfahren oder gemäß der darin zitierten Literatur 25 hergestellt werden.

Vorzugsweise wird dabei der Alkohol R-OH bei dem R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest darstellt, direkt durch Phosphorylierung in die entsprechenden Alkylphosphoamiderivate, insbesondere in die entsprechenden Alkylphosphocholine überführt. Hierzu kann man z.B. den Alkohol (IX) mit einer Verbindung der allgemeinen Formel (X):



35

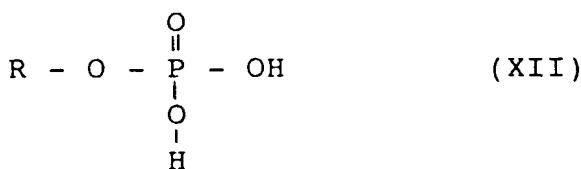
umsetzen, wobei Y, Y' und Y'' Halogenreste darstellen (z.B. kann es sich bei der Verbindung (X) um 2-Bromethyl-phosphordichlorid handeln). Aus dieser Reaktion und anschließender Aufarbeitung durch Hydrolyse resultiert eine Verbindung mit der allgemeinen Formel (XI):



45

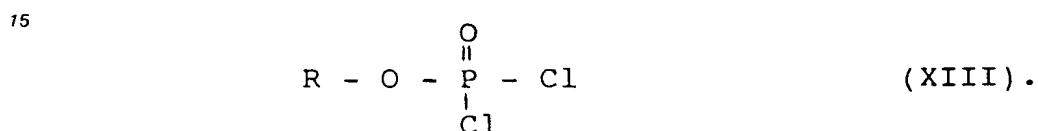
bei der R und Y'' die oben genannten Bedeutungen besitzen. Der letzte Schritt der Reaktion umfaßt die Umsetzung dieser Verbindung (XI) mit einem Amin der Formel $N - R_1, R_2, R_3$ bzw. einem quarternären Ammoniumsalz der Formel $HN^+ R_1, R_2, R_3 Y^-$, wobei R_1 , R_2 und R_3 die in Anspruch 1 angegebenen 50 Bedeutungen besitzen. Beispiele für erfindungsgemäß geeignete tertiäre Amine sind etwa Trimethylamin, Dimethylethylamin, Diethylmethylamin, Triethylamin, N,N-Dimethyl-N-propylamin, N,N-Dimethyl-N-iso-propylamin, N-Cyclopropyl-N,N-dimethylamin, N-Allyl-N,N-dimethylamin, N-Ethyl-N-methyl-N-propylamin, N-Butyl-N,N-dimethylamin, N,N-Dimethyl-N-hydroxyethylamin, N,N-Dihydroxyethyl-N-methylamin, N-Cyclobutyl-N,N-dimethylamin, N-Methylpyrrolidin, N-Ethylpyrrolidin, N-Methylmorpholin und dgl..

55 Andererseits kann man zur Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen den Alkohol (IX) mit Phosphoroxytrichlorid ($POCl_3$) umsetzen. Bei nachfolgender Hydrolyse erhält man ein Produkt der allgemeinen Formel (XII)

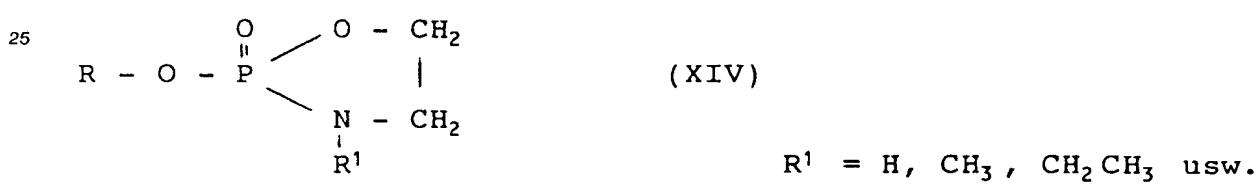


10 Dieses Produkt wiederum kann mit einem tertiären Ammoniumsalz der Formel $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-N}^+$ -
 R₁,R₂,R₃ zu einer erfindungsgemäßen Substanz der allgemeinen Formel I umgesetzt werden. Die detaillierten Reaktionsbedingungen sind dabei aus den oben genannten Literaturstellen zu entnehmen.

Das bevorzugte Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Substanzen ist die Umsetzung des Alkohols (IX) mit POCl_3 unter Bildung des entsprechenden Phosphorsäuredichlorids (XIII)

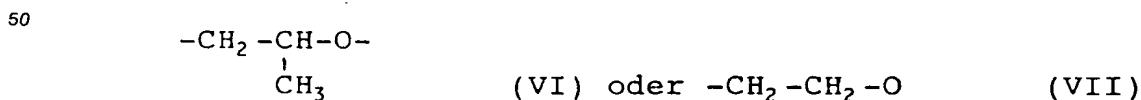
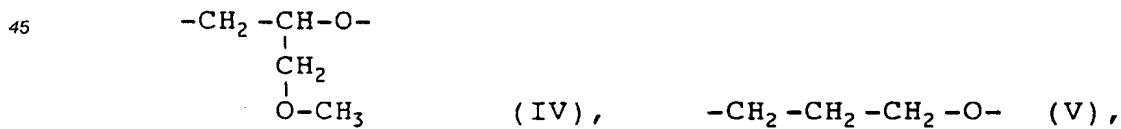
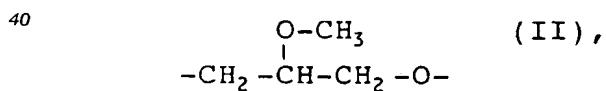


20 Diese Verbindung wird mit einem Ethanolamin oder einem entsprechend substituierten Ethanolamin zu einem heterozyklischen 5-Ring umgesetzt (XIV)



35 Die Öffnung des Ringes unter sauren Bedingungen führt zu den entsprechenden Phosphoethanolaminen, die durch Alkylierung in die gewünschten peralkylierten Verbindungen der allgemeinen Formel I, u.a. in Phosphocholin umgewandelt werden können. Dieses Verfahren ist detailliert in H. Eibl (Proc.Natl.Acad. Sci. USA 75 (1978), 4074-4077) beschrieben.

Die Herstellung von erfindungsgemäßen Verbindungen der allgemeinen Formel (I), wo A eine Gruppe mit den Formeln (II), (IV), (V), (VI) und (VII)



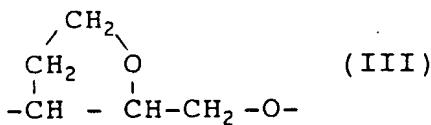
55 ist, erfolgt ebenfalls nach bekannten Verfahren. Ein Beispiel hierfür ist neben den bereits oben zitierten Methoden insbesondere die DE 32 39 817. Ferner können die Alkohole der Formel (IX) auch über ihre Mesylate in die entsprechenden Alkylglycerine oder anderen Derivate umgewandelt werden, deren Phosphorylierung dann zu erfindungsgemäßen Substanzen führt.

Die Herstellung von Verbindungen, bei denen X Schwefel ist, kann gemäß Bosies et al. (Lipids 22 (1987), 947-951) durch eine mehrstufige Reaktion aus Glycerin und einem Thiol der allgemeinen Formel (XV):

5 R - SH (XV)

erfolgen, wobei R ein Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylrest ist. Andererseits kann die Phosphorylierung des Thiols auch durch die oben zitierten Phosphorylierungsmethoden erfolgen.

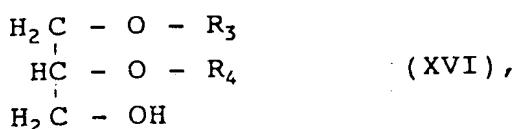
Die Herstellung von Verbindungen der Formel (I), bei denen A eine Gruppe mit der Formel (III)



darstellt, erfolgt gemäß Houlihan et al. (Lipids 22 (1987), 884-890) ausgehend von der kommerziell erhältlichen 2-Furancarbonsäure. Andererseits kann der Alkohol als Grundkörper jedoch auch nach den oben zitierten Methoden phosphoryliert und weiter umgesetzt werden.

20 Die erfindungsgemäßen Substanzen haben sich sehr gut als Arzneimittel geeignet erwiesen. Ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist daher auch ein Arzneimittel, das als Wirkstoff eine oder mehrere der erfindungsgemäßen Substanzen, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln enthält. Vorzugsweise enthält das erfindungsgemäße Arzneimittel als Wirkstoff Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylphosphocholin, besonders bevorzugt Erucylphosphocholin.

25 Die erfindungsgemäßen Substanzen können auch in Kombination mit Alkylglycerinen der allgemeinen Formel (XVI)



35 verwendet werden, in der einer der Reste R³ und R⁴ eine Alkylgruppe mit 2 bis 12 C-Atomen und der andere Rest ein H-Atom bedeutet. Vorzugsweise enthält ein derartiges Arzneimittel ein Alkylglycerin-Gemisch aus Nonyl- bzw. Octylglycerin, Hexyl- bzw. Pentylglycerin und Propyl- bzw. Ethylglycerin sowie Wasser. Derartige Arzneimittelkombinationen von Alkylglycerinen und Phospholipiden und die bevorzugten Gehalte der einzelnen Wirkstoffe sind in der DE-OS 36 41 379 offenbart. Die Arzneimittel, die eine erfindungsgemäße Substanz in Kombination mit mindestens einem Alkylglycerin enthalten, sind insbesondere zur topischen Applikation geeignet.

40 Überraschenderweise besitzen die erfindungsgemäßen Substanzen, insbesondere die Erucyl- und Nervonylderivate keine hämolytischen Eigenschaften, wie sie bei anderen Lysolecitinen beobachtet wurden. Deshalb können diese Substanzen in physiologischen Lösungen (Kochsalz-, Ringer- etc.) aufgenommen und intravenös appliziert werden. Noch überraschender ist aber die Tatsache, daß diese Substanzen gegenüber Hexadecylphosphocholin eine deutlich bessere Wirkung besitzen.

45 Besonders geeignet haben sich die erfindungsgemäßen Arzneimittel zur Bekämpfung von Tumoren erwiesen. So wird mit Erucylphosphocholin eine gegenüber Hexadecylphosphocholin in gleichen Mengen erheblich verbesserte Kontrolle des Tumorwachstums bei Methylnitroharnstoff induzierten Mammakarzinomen erzielt. Die erfindungsgemäßen Arzneimittel sind weiterhin zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzerkrankungen, insbesondere der Leishmaniasis geeignet. Ferner eignen sich die erfindungsgemäßen Arzneimittel auch zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von Multipler Sklerose. Überdies ist eine Therapie von Knochenmarkschädigungen möglich, die durch Behandlung mit Zytostatika und anderen knochenmarkschädigenden Wirkstoffen aufgetreten ist.

55 Weiterhin ein Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist auch ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Arzneimittels, das insbesondere als Antitumormittel, Mittel zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzerkrankungen, insbesondere von Leishmaniasis, als Mittel zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von Multipler Sklerose sowie als Mittel zur Therapie von Knochenmarkschädigungen.

ungen formuliert ist.

Durch Verabreichung des erfindungsgemäßen Arzneimittels werden Verfahren zur Bekämpfung von Tumoren, Protozoen- und Pilzerkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder Knochenmarkschädigungen bereitgestellt. Vorzugsweise wird dabei das Arzneimittel intravenös verabreicht. Es ist jedoch ebenfalls eine subkutane oder topische Verabreichung des erfindungsgemäßen Arzneimittels möglich.

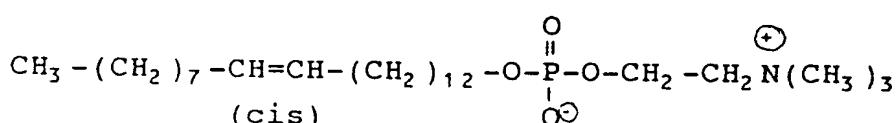
Die vorliegende Erfindung soll durch die folgenden Beispiele weiter verdeutlicht werden.

Beispiele

10 Gruppe I: Erucylreste und Brassidylreste

Beispiel 1

Erucyl-Phosphocholin

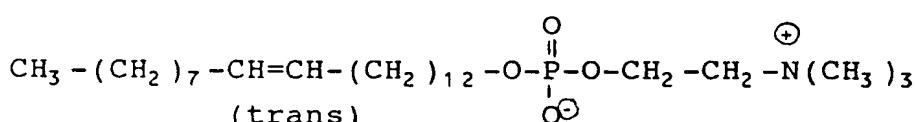


C ₂₇ H ₅₆ NO ₄ P; 489.722				
ber.(%):	C, 66.22	H, 11.53	N, 2.86	P, 6.33
gef.(%):	65.98	11.45	2.69	6.21

Die Herstellung der Verbindungen gemäß den Beispielen 1 bis 19 und 33 bis 35 erfolgt gemäß Methoden, wie sie z.B. in DE 27 52 125, DE 36 41 379, DE 36 41 491, DE 36 41 377 und DE 40 13 632 oder der darin zitierten Literatur beschrieben sind

Beispiel 2

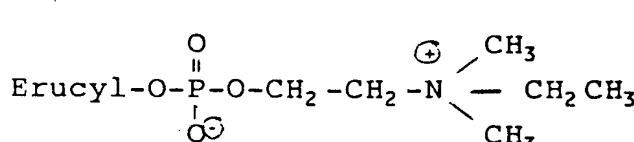
Brassidyl-Phosphocholin



C₂₇H₅₆NO₄P; 489.722

Beispiel 3

50



5

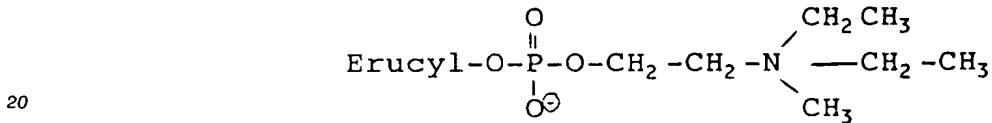
$C_{28}H_{58}NO_4P$, 503.749				
ber.(%):	C, 66.76	H, 11.61	N, 2.78	P, 6.15
gef.(%):	66.51	11.53	2.69	6.01

Beispiel 4

10 Brassidyl-phospho-(N.N-dimethyl-N-ethyl)-ethanolamin
 $C_{28}H_{58}NO_4P$; 503.749

Beispiel 5

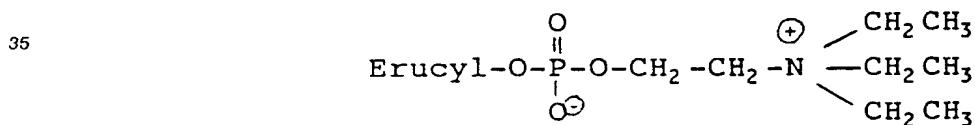
15 Erucyl-phospho-(N.N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin

 $C_{29}H_{60}NO_4P$; 517.776Beispiel 6

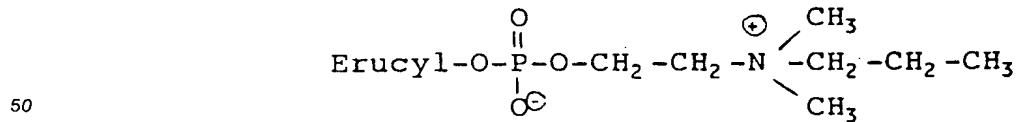
Brassidyl-phospho-(N.N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin
 $C_{29}H_{60}NO_4P$; 517.776

Beispiel 7

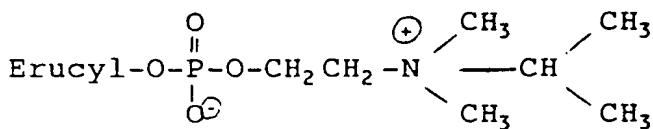
Erucyl-phospho-(N.N.N-triethyl)-ethanolamin

 $C_{30}H_{62}NO_4P$; 531.803Beispiel 8

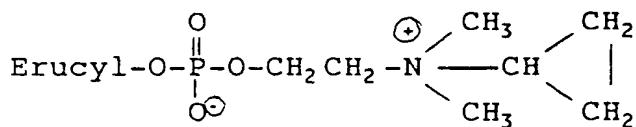
45 Erucyl-phospho-(N.N-dimethyl-N-propyl)-ethanolamin

 $C_{29}H_{60}NO_4P$; 517.776Beispiel 9

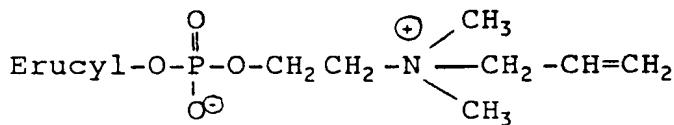
Erucyl-phospho-(N.N-dimethyl-N-isopropyl)-ethanolamin

C₂₉H₆₀NO₄P; 517.77610 Beispiel 10

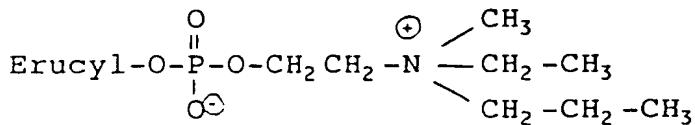
Erucyl-phospho-(N-cyclopropyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin

20 C₂₉H₅₈NO₄P; 515.760Beispiel 11

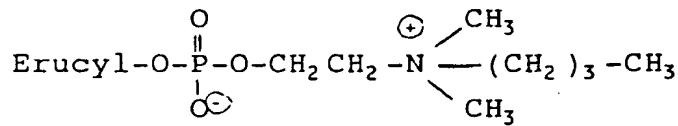
25 Erucyl-phospho-(N-allyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin

C₂₉H₅₈NO₄P; 515.76035 Beispiel 12

Erucyl-phospho-(N-ethyl-N-methyl-N-propyl)-ethanolamin

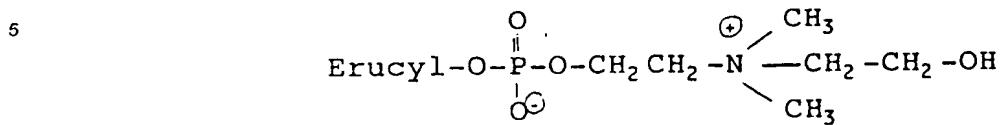
45 C₃₀H₆₂NO₄P; 531.803Beispiel 13

50 Erucyl-phospho-(N-butyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin

C₃₀H₆₂NO₄P; 530.803

Beispiel 14

Erucyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-hydroxyethyl)-ethanolamin

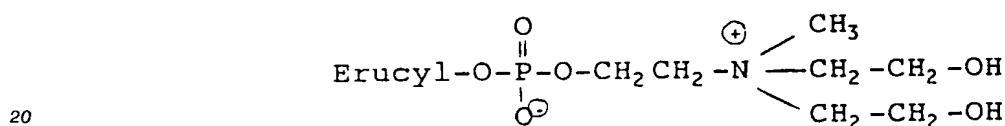


10

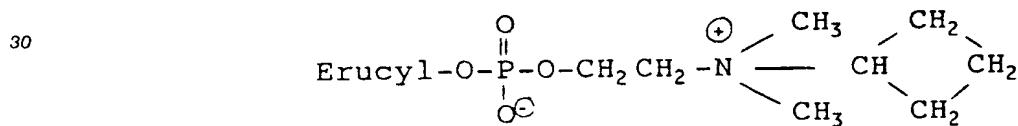
C₂₈H₅₈NO₅P; 519.748

Beispiel 15

Erucyl-phospho-(N,N-dihydroxyethyl-N-methyl)-ethanolamin

C₂₉H₆₀NO₆P; 549.774Beispiel 16

Erucyl-phospho-(N-cyclobutyl-N,N-dimethyl)-ethanolamin



25

C₃₀H₆₀NO₄P; 529.787

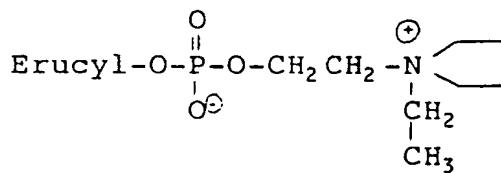
Beispiel 17

Erucyl-phosphorsäure-(N-methyl)-pyrrolidinoethylester

C₂₉H₅₈NO₄P; 515.760Beispiel 18

Erucyl-phosphorsäure-(N-ethyl)-pyrrolidinoethylester

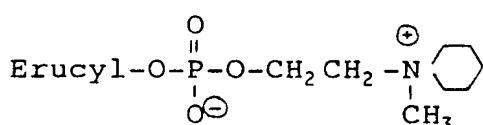
55



C₃₀H₆₀NO₄P; 529.787

10 Beispiel 19

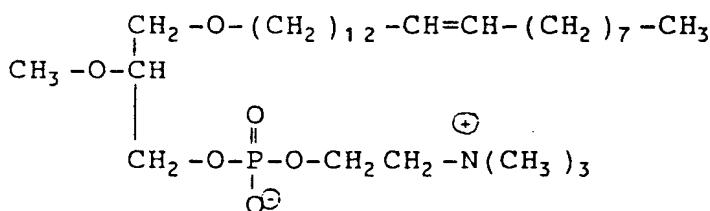
Erucyl-phosphorsäure-(N-methyl)-morpholino-ethylester



20 C₃₀H₆₀NO₄P; 529.787

Beispiel 20

25 1-Erucyl-2-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin



35 C₃₁H₆₄NO₆P; 577.828

Die Herstellung der Verbindungen gemäß den Beispielen 20 bis 22 und 27 bis 32 erfolgt wie z.B. in der DE 32 39 817 und der dort zitierten Literatur oder wie in Beispiel 1 beschrieben.

40 Beispiel 21

1-Erucyl-2-methyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Beispiel 22

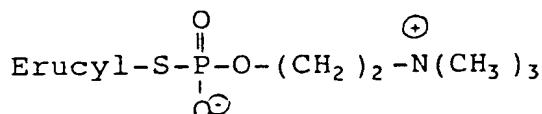
45 3-Erucyl-2-methyl-sn-glycero-1-phosphocholin

Alle Modifikationen bezüglich der Aminogruppe sowie der Austausch des Erucylrests gegen einen Brassidylrest, die in den Beispielen 1 bis 19 beschrieben worden sind, können auch auf das Grundgerüst 1-Erucyl-2-methyl-glycerin übertragen werden, mit der gleichen Methodologie und vergleichbaren Ausbeuten.

50 Beispiel 23

1-Erucylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N,N-trimethyl)-ammonio-ethylphosphat
C₃₂H₆₆NO₅PS, 607.916

55



5

10

ber.(%):	C, 63.23	H, 10.94	N, 2.30	P, 5.10
gef.(%):	62.95	10.89	2.26	4.98

Die Schwefel enthaltenden Verbindungen können nach Bosies et al. (Lipids, 22 (1987) 947-951) hergestellt werden. Das entsprechende Thiol wurde jedoch nach den in Beispiel 1 zitierten Phosphorylierungsmethoden phosphoryliert und weiter umgesetzt.

15 Auch hier können die Modifikationen 1 bis 19 eingeführt werden, ausgehend von dem entsprechenden Alkohol.

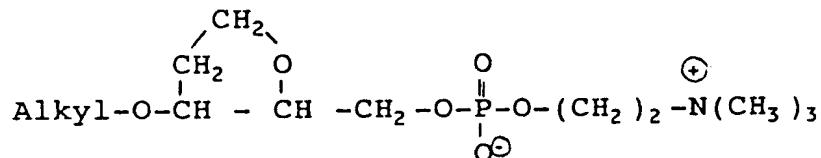
Beispiel 24

20 1-Erucylmercapto-2-methoxymethylpropyl-2'-(N,N-dihydroxyethyl-N-methyl)-ammonio-ethylphosphat
C₃₄H₇₀NO₇PS, 667.968

Beispiel 25

25 Weiter können nach Houlihan et al. (Lipids, 22 (1987) 884-890) folgende Wirkstoffe, die Erucyl- oder Brassidyl-Reste enthalten, hergestellt werden, die auf folgendem Grundgerüst aufgebaut sind: (±) -2-{Hydroxy[tetrahydro-2-(alkyl)-methylfuran-2-yl]methoxyphosphinyloxy}-N,N,N-trimethylethanaminiumhydroxid. Der Alkohol als Grundkörper wurde jedoch nach den in Beispiel 1 zitierten Methoden phosphoryliert und weiter umgesetzt.

30 Erucyl als Alkylrest C₃₂H₆₄NO₆P; 589.839



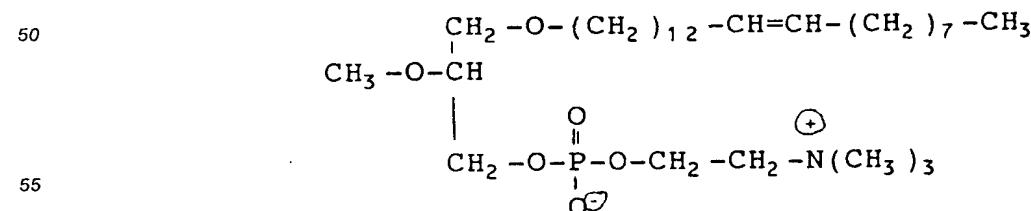
40

Beispiel 26

Brassidyl als Alkylrest C₃₂H₆₄NO₆P; 589.839

45 Beispiel 27

1-Erucyl-3-methyl-rac-glycero-3-phosphocholin



$C_{31}H_{64}NO_6P$; 577.828				
ber.(%):	C, 64.44 gef.(%): 64.29	H, 11.17 11.11	N, 2.42 2.39	P, 5.36 5.31

5

Beispiel 28

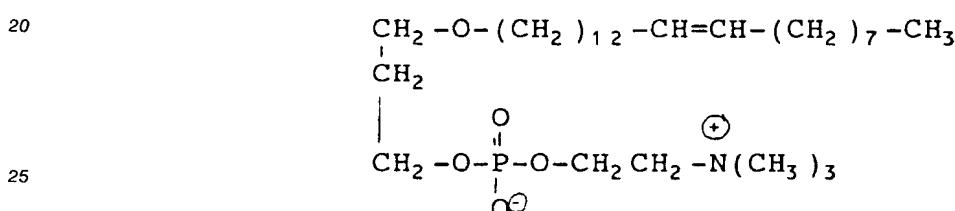
10 1-Erucyl-3-methyl-sn-glycero-3-phosphocholin

Beispiel 29

3-Erucyl-1-methyl-sn-glycero-2-phosphocholin

15 Beispiel 30

1-Erucyl-propandiol-(1,3)-phosphocholin



$C_{30}H_{62}NO_5P$; 547.802

ber.(%):	C, 65.78 gef.(%): 65.61	H, 11.41 11.35	N, 2.56 2.49	P, 5.65 5.58
----------	----------------------------	-------------------	-----------------	-----------------

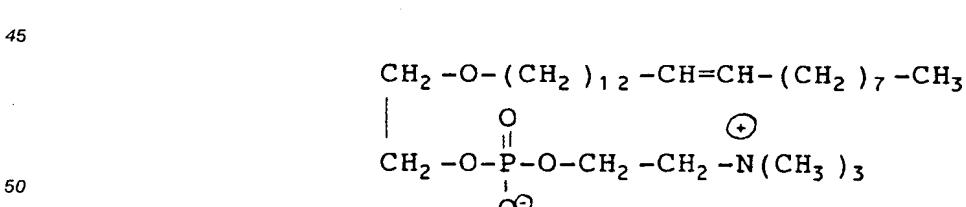
35

Beispiel 31

1-Erucyl-propandiol-(1,2)-phosphocholin

 $C_{30}H_{62}NO_5P$; 547.80240 Beispiel 32

Erucyl-glykol-phosphocholin



$C_{29}H_{60}NO_5P$; 533.775

ber.(%):	C, 65.26 gef.(%): 65.17	H, 11.33 11.26	N, 2.62 2.57	P, 5.80 5.72
----------	----------------------------	-------------------	-----------------	-----------------

Gruppe II: Nervonylreste

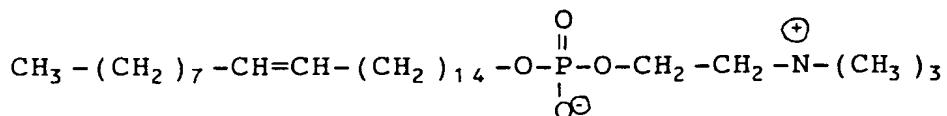
Alle Verbindungen aus Gruppe I (Beispiel 1 bis 32) können durch analoge Verfahren auch mit Nervonylresten hergestellt werden.

5

Beispiel 33

Nervonyl-Phosphocholin (cis-15-Tetracosenyl-PC)

10



15

$\text{C}_{29}\text{H}_{60}\text{NO}_4\text{P}$; 517.776				
ber.:	C, 67.27 67.13	H, 11.68 11.59	N, 2.71 2.64	P, 5.98 5.68

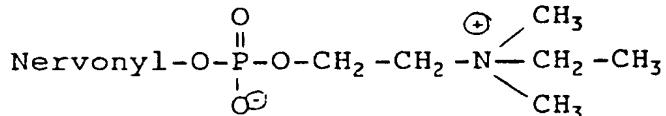
20

Beispiel 34

25

Nervonyl-phospho-(N,N-dimethyl-N-ethyl)-ethanolamin

30



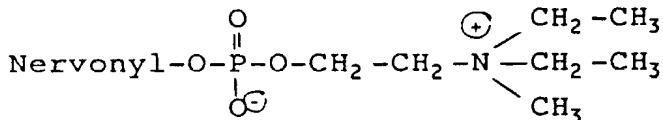
$\text{C}_{30}\text{H}_{62}\text{NO}_4\text{P}$; 531.803

35

Beispiel 35

Nervonyl-phospho-(N,N-diethyl-N-methyl)-ethanolamin

40



45

$\text{C}_{31}\text{H}_{64}\text{NO}_4\text{P}$; 545.830

Nervonylderivate, die zu den Verbindungen gemäß den Beispielen 7 bis 26 analog sind, werden nach den jeweils dort beschriebenen Verfahren hergestellt.

50

Anwendungsbeispiel

55

Die Herstellung einer Hexadecylphosphocholin-Formulierung in Liposomen erfolgt gemäß DE 40 26 136.0. Hexadecylphosphocholin (12 mmol), Cholesterin (15 mmol) und DPPG (3 mmol) werden in 200 ml 2-Propanol unter Erwärmen gelöst. Dann wird das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der feinverteilte Lipidfilm mit 300 ml Phosphatpufferlösung, pH 7,0 versetzt. Anschließend wird das Gemisch unter langsamer Rotation 60 Minuten bei 40 °C gehalten.

Anschließend wird die erhaltene Lipidsuspension in die Druckzelle der French Press überführt und bei 740 MPa ausgepreßt und dieser Vorgang dreimal wiederholt. Die gebildete Liposomendispersion wird dann 30 Minuten bei 27.000 g und 5 °C zentrifugiert und der Überstand gewonnen.

Gleichzeitig wurde eine Erucylphosphocholin-Formulierung in physiologischer NaCl-Lösung hergestellt.

Methylnitroharnstoff-induzierte Mammakarzinome in der Ratte werden mit den wie oben hergestellten Formulierungen in einer Menge behandelt, die den angegebenen Konzentrationen von Hexadecylphosphocholin bzw. Erucylphosphocholin pro kg Ratte als Tagesdosis entspricht. Nach 4 Wochen werden die 5 Tumorgewichte von unbehandelten Kontrolltieren auf 100 % gesetzt. Dieser Wert entspricht ungehindertem Tumorwachstum. Die Tumortiere in der behandelten Gruppe erreichen Werte zwischen 0 und 100 % im Vergleich zur Kontrollgruppe, wie in Tabelle 1 angegeben.

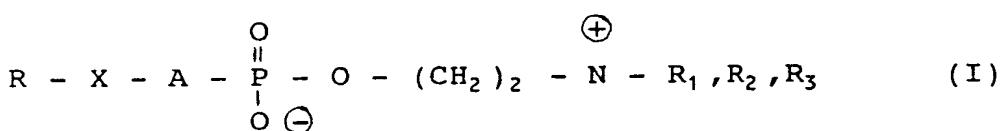
Tabelle 1

Wirkstoffe	Formulierung	Menge/Tag	Wirkung*
Hexadecylphosphocholin	Liposomen	30 μmol	< 10 %
		10 μmol	~ 90 %
Erucylphosphocholin	in phys. NaCl-Lös.	10 μmol	< 10 %
		6 μmol	< 10 %
		3 μmol	< 10 %

* Restgewicht des Tumors in % bezüglich der unbehandelten Kontrolle

Patentansprüche

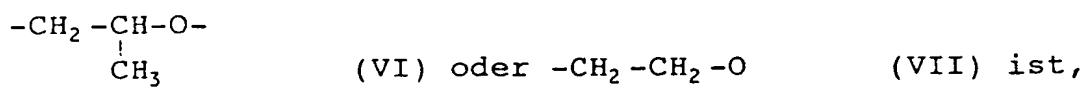
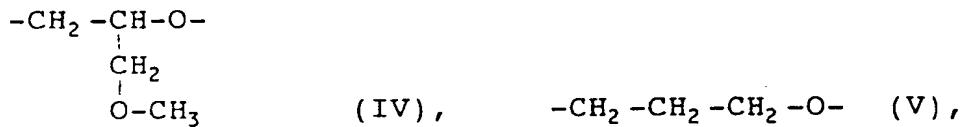
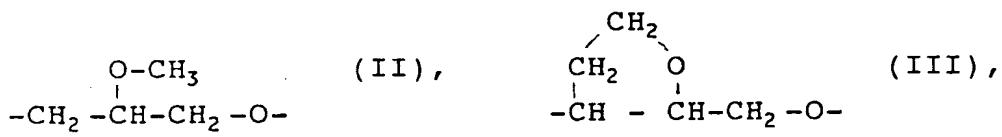
1. Verbindungen der allgemeinen Formel I



in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,

R_1 , R_2 und R_3 unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei 35 zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,

A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln



55 wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist, und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet, wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist.

2. Verbindungen nach Anspruch 1,
dadurch gekennzeichnet,
 daß X ein Sauerstoffatom bedeutet.

5 3. Verbindungen nach Anspruch 1 oder 2,
dadurch gekennzeichnet,
 daß A eine Einfachbindung bedeutet.

10 4. Verbindungen nach den Ansprüchen 1 bis 3,
dadurch gekennzeichnet,
 daß R₁, R₂ und R₃ jeweils Methylgruppen sind.

15 5. Erucylphosphocholin.

6. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung nach einem der Ansprüche 1 bis 5,
dadurch gekennzeichnet,
 daß man eine Carbonsäure der allgemeinen Formel

R - OOH (VIII)

20 in der R die in Anspruch 1 angegebene Bedeutung hat, mit LiAlH₄ zum entsprechenden Alkohol mit der allgemeinen Formel

R - OH (IX)

25 reduziert und dann auf an sich bekannte Weise zu einer Verbindung mit der allgemeinen Formel (I) umsetzt.

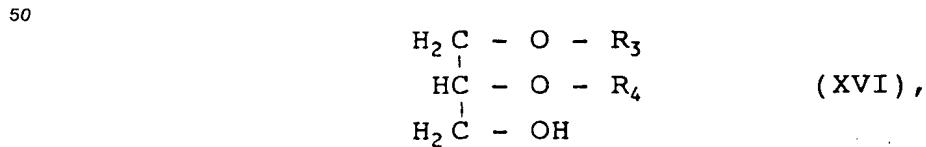
30 7. Arzneimittel,
dadurch gekennzeichnet,
 daß es als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln enthält.

35 8. Arzneimittel nach Anspruch 7,
dadurch gekennzeichnet,
 daß es als Wirkstoff Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonylphosphocholin enthält.

40 9. Arzneimittel nach Anspruch 8,
dadurch gekennzeichnet,
 daß es als Wirkstoff Erucylphosphocholin enthält.

45 10. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 7 bis 9,
dadurch gekennzeichnet,
 daß es den Wirkstoff in einer physiologischen Lösung enthält.

11. Arzneimittel nach einem der Ansprüche 7 bis 10,
dadurch gekennzeichnet,
 daß es zusätzlich mindestens ein Alkylglycerin der allgemeinen Formel (XVI)



55

in der einer der Reste R₃ und R₄ eine Alkylgruppe mit 2 bis 12 C-Atomen und der andere Rest ein H-Atom bedeutet, enthält.

12. Arzneimittel nach Anspruch 11,
dadurch gekennzeichnet,
daß es ein Alkylglycerin-Gemisch enthält aus Nonyl- bzw. Octylglycerin, Hexyl- bzw. Pentylglycerin und Propyl- bzw. Ethylglycerin und Wasser.

5 13. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Bekämpfung von Tumoren.

14. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzerkrankungen, insbesondere der Leishmaniasis.

10 15. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von multipler Sklerose.

16. Verwendung eines Arzneimittels nach einem der Ansprüche 7 bis 12 zur Therapie von Knochenmarkschädigungen durch Behandlung mit Zytostatika und anderen knochenmarkschädigenden Wirkstoffen.

15 17. Verfahren zur Herstellung eines Antitumormittels,
dadurch gekennzeichnet,
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.

20 18. Verfahren zur Herstellung eines Mittels zur Bekämpfung von Protozoen- und Pilzerkrankungen, insbesondere von Leishmaniasis,
dadurch gekennzeichnet,
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.

25 19. Verfahren zur Herstellung eines Mittels zur Therapie von Autoimmunerkrankungen, insbesondere von Multipler Sklerose,
dadurch gekennzeichnet,
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.

30 20. Verfahren zur Herstellung eines Mittels zur Therapie von Knochenmarksschädigungen,
dadurch gekennzeichnet,
daß man eine Formulierung herstellt, die als Wirkstoff eine oder mehrere Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5 enthält, gegebenenfalls zusammen mit pharmazeutisch üblichen Träger-, Hilfs-, Füll- und Verdünnungsmitteln.

35 21. Verfahren zur Bekämpfung von Tumoren, Protozoen- und Pilzerkrankungen, Autoimmunerkrankungen oder Knochenmarksschädigungen,
dadurch gekennzeichnet,
daß man dem Patienten ein Arzneimittel nach einem der Ansprüche 7 bis 12 verabreicht.

40 22. Verfahren nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet,
daß man das Arzneimittel intravenös verabreicht.

45 23. Verfahren nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet,
daß man das Arzneimittel subkutan verabreicht.

50 24. Verfahren nach Anspruch 21,
dadurch gekennzeichnet,
daß man das Arzneimittel topisch verabreicht.



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



⑪ Veröffentlichungsnummer: 0 507 337 A3

12

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: 92105822.8

⑤1 Int. Cl.5: **C07F 9/113, A61K 31/66,**
C07F 9/572, C07F 9/59,
C07F 9/10, C07F 9/173,
C07F 9/655, C07F 9/09

22 Anmeldetag: 03.04.92

③ Priorität: 05.04.91 DE 4111105

④ Veröffentlichungstag der Anmeldung:
07.10.92 Patentblatt 92/41

84 Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU MC
NL PT SE**

88 Veröffentlichungstag des später veröffentlichten Recherchenberichts: 27.01.93 Patentblatt 93/04

⑦1 Anmelder: Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.

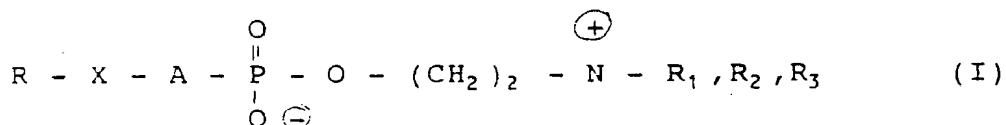
**Bunsenstrasse 10
W-3400 Göttingen(DE)**

72 Erfinder: **Eibl, Hansjörg, Prof. Dr.**
Heinrich-Deppe-Ring 22
W-3406 Bovenden-Eddigehausen

74 Vertreter: **Huber, Bernhard, Dipl.-Chem. et al**
Patentanwälte H. Weickmann, Dr. K. Fincke
F.A. Weickmann, B. Huber Dr. H. Liska, Dr. J.
Prechtel Kopernikusstrasse 9 Postfach 86 08
20
W-8000 München 86(DE)

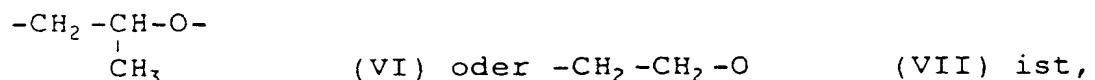
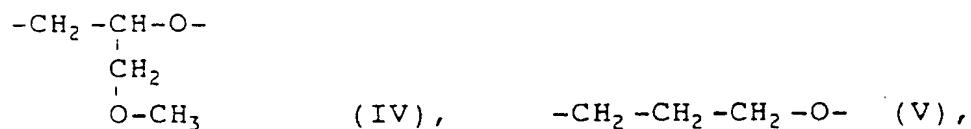
54 Neue Erucyl-, Brassidyl- und Nervonylderivate.

57) Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel I



in der R einen Erucyl-, Brassidyl- oder Nervonyl-Rest,
 R_1 , R_2 und R_3 unabhängig voneinander je einen geradkettigen, verzweigten, cyclischen gesättigten oder ungesättigten Alkylrest mit 1 bis 4 C-Atomen, der auch eine OH-Gruppe enthalten kann und wobei zwei dieser Reste auch zu einem Ring verbunden sein können,
A eine Einfachbindung oder eine der Gruppen mit den Formeln

SEP 0507 337 A3



wobei die Gruppen (II) bis (VII) eine solche Orientierung besitzen, daß das Sauerstoffatom an das Phosphoratom der Verbindung (I) gebunden ist,
und X ein Sauerstoffatom ist, wenn A eine Einfachbindung ist oder ein Sauerstoff- oder Schwefelatom bedeutet,
wenn A eine der Gruppen (II) bis (VII) ist, sowie deren Verwendung als Arzneimittel.



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 92 10 5822

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrieft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 5)
D, Y	EP-A-0 108 565 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) * das ganze Dokument * ---	1,7-24	C07F9/113 A61K31/66 C07F9/572 C07F9/59 C07F9/10 C07F9/173 C07F9/655 C07F9/09
Y	US-A-4 562 005 (SHOSHICHI NOJIMA) * das ganze Dokument * ---	1,7-24	
Y	EP-A-0 061 872 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) * das ganze Dokument * ---	1,7-24	
P, X	CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY Bb. 30, Nr.2, 1992, Seiten 105- 112 J. KÖTTING 'Alkylphosphocholines' * das ganze Dokument * -----	1-24	
RECHERCHIERTE SACHGEBiete (Int. Cl. 5)			
C07F A61K			
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt			
Recherchierterort	Abschlußdatum der Recherche		Prüfer
DEN HAAG	24 NOVEMBER 1992		BESLIER L.M.
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE			
X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur	T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldeatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument		

